



**Universidade Federal da Paraíba**  
**Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional - CTDR**  
**Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira-DTS**



## **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

### **FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DO HIDROLISADO DE MANIPUEIRA**

**GLAUBER FELIPE NUNES DE LIMA**

Orientadora: Prof. Dra. Solange Maria de Vasconcelos.

João Pessoa-PB

**2017**



**Universidade Federal da Paraíba**  
**Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional - CTDR**  
**Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira–DTS**



**FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DO HIDROLISADO DE MANIPUEIRA**

**GLAUBER FELIPE NUNES DE LIMA**

Trabalho de Conclusão do Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira.

Orientadora: Prof. Dra. Solange Maria de Vasconcelos.

João Pessoa, PB

**2017**

L732f Lima, Glauber Felipe Nunes de.  
Fermentação alcoólica do hidrolisado de Manipueira. [recurso eletrônico] / Glauber Felipe Nunes de Lima. -- 2017.  
41 p. + CD.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Orientador: Dra. Solange Maria de Vasconcelos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Tecnologia Sucroalcooleira) – CTDR/UFPB.

1. Etanol. 2. Sacarificação enzimática - Manipueira. 3. Fermentação alcoólica - Processo. I. Vasconcelos, Solange Maria de. II. Título.

CDU: 661.722(043.2)

## FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DO HIDROLISADO DE MANIPUEIRA

TCC aprovado em 08/06/17 como requisito para a conclusão do curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira da Universidade Federal da Paraíba.

### BANCA EXAMINADORA:

Solange Maria de Vasconcelos

Profª. Drª. Solange Maria de Vasconcelos - (UFPB –Orientadora)

Ângela Lucínia U. Vasconcelos

Profª. Drª. Ângela Lucínia Urtiga Vasconcelos - (UFPB – Membro interno)

Erika Adriana de Santana Gomes

Profª. Drª. Erika Adriana de Santana Gomes (UFPB – Membro Interno)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus, por estar comigo e me protegendo durante essa minha caminhada, a família por ter me educado e me incentivado a alcançar meus objetivos. Dedico também aos amados professores, pelo apoio e paciência durante essa jornada acadêmica.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela proteção durante esse período da minha vida. Por mostrar-me que sempre após a escuridão vem a luz, por mostrar que em meio as dificuldades tem sempre alguma solução, e mesmo por falta de dinheiro, distância, sol e chuva, me trouxe até esse momento, me dando força, perseverança e proteção todos os dias.

Agradeço aos meus pais, Gerson Antônio de Lima e Nara Nubia Nunes de Lima, por todo o amor, apoio e dedicação em todos os momentos da minha vida.

Agradeço a Larissa Cavalcanti de Souza Medeiros pelo amor, companheirismo, força, positividade e enorme sabedoria, me passando confiança sobre minha capacidade de realizar meus objetivos.

Agradeço a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Solange Maria de Vasconcelos por ter aceitado me orientar nesse trabalho, a quem sou extremamente grato pela dedicação e empenho na execução deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Fábio Resende de Melo, pela oportunidade e confiança e todo o conhecimento adquirido durante a minha graduação e por acreditar em mim e por toda a ajuda e apoio recebido.

Agradeço as minhas amigas, Amanda Gisele, Eline Andrade, Laura Luna, Maira Raely, pelo companheirismo e apoio durante o curso; vou levar essa amizade para o resto da vida.

Aos técnicos de laboratório Aline Gouveia, Larissa Farias, Hébert Henrique, José Carlos, Claudia Gouveia, Aline Souza, Diego e Gisleânia, pelo auxílio nas execuções das análises, apoio, compreensão e amizade.

Agradeço ao Departamento de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira, meu amado departamento, onde aprendi a amar o curso e me dedicar para seguir na vida profissional.

Agradeço a todos os professores do departamento pela confiança e sabedoria passada durante todos esses anos.

Agradeço a todos que participaram direta e indiretamente desta conquista.

## RESUMO

A instituição de acordos entre os diversos países do mundo, com o objetivo de se reduzir a emissão de gases causadores do efeito estufa, tem despertado o interesse e desenvolvimento de pesquisas, no sentido de se produzir e utilizar energias de origem renovável. Dentre estas estão as energias eólica, solar e de biomassa. O Brasil é um país referência na produção de etanol, a partir do caldo de cana-de-açúcar. No entanto, nos últimos anos, houve uma tendência mundial de se ampliar a produção de etanol, utilizando-se também como matérias-primas os resíduos agroindustriais, uma vez que alguns desses são descartados no meio ambiente, sem nenhum tratamento prévio, atuando como agentes poluidores. Dentre estes resíduos, no caso do Brasil, está a manipueira que é o líquido obtido da prensagem da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), em seu processamento para a produção de farinha. A manipueira apresenta um aspecto leitoso, cor amarelo-claro e forte odor e é altamente poluente. Com o objetivo de agregar valor ao resíduo, foi realizada neste trabalho uma análise sobre o potencial do mesmo na produção de etanol. O trabalho foi realizado em duas etapas. Na primeira, o resíduo manipueira foi sacarificado enzimaticamente, nas seguintes condições: enzima alfa-amilase (1 mL de enzima/100 mL de substrato), 75 °C, pH 5,0, durante 54 horas. A segunda etapa foi referente à fermentação alcoólica do hidrolisado obtido na primeira etapa. O agente fermentativo utilizado foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA-11). O volume total de mosto foi de 150 mL, sendo a fermentação conduzida em incubadora shaker (LUCA-223) a 100 rpm, 30 °C e pH 6,0. O processo foi monitorado pela redução do teor de sólidos solúveis (°Brix), tendo sido considerada como finalizada quando o °Brix se mantinha constante, após 4 leituras consecutivas. Com isso, o processo foi finalizando entre 26 e 27 horas de fermentação. Ao final do processo houve um consumo significativo dos açúcares redutores, na média de 93%. O rendimento médio de etanol em relação ao teórico foi de 65,59 ± 1,83 (%).

**Palavras-chave:** Manipueira, sacarificação, fermentação alcoólica, rendimento, etanol.

## ABSTRACT

The establishment of agreements between the different countries of the world, with the aim of reducing the emission of greenhouse gases, has aroused the interest and development of research, in the sense of producing and using renewable energy sources. Among these are wind, solar and biomass energies. Brazil is a reference country in the production of ethanol, from the sugarcane juice. However, in recent years, there has been a worldwide tendency to increase ethanol production, also using agro-industrial waste as raw materials, since some of these are discarded in the environment, without any previous treatment, acting as agents Polluters Among these residues, in the case of Brazil, there is the manipueira, liquid obtained from the pressing of manioc (*Manihot esculenta Crantz*), in its processing for the production of flour. The manipueira has a milky appearance, light yellow color and strong odor and is highly polluting. In order to add value to the residue, an analysis was made on the potential of ethanol production. The work was carried out in two stages. In the first, the manipulative residue was enzymatically saccharified under the following conditions: alpha-amylase enzyme (1 mL enzyme / 100 mL substrate), 75 °C, pH 5.0, for 54 hours. The second stage was related to the alcoholic fermentation of the hydrolyzate obtained in the first stage. The fermentative agent used was *Saccccharomyces cerevisiae* yeast (UFLA CA-11). The total volume of must was 150 mL, the fermentation being conducted in a shaker incubator (LUCA-223) at 100 rpm, 30 °C and pH 6.0. The process was monitored by the reduction of soluble solids content (°Brix), and was considered finished when °Brix remained constant after 4 consecutive readings. With this, the process was finalized between 26 and 27 hours of fermentation. At the end of the process there was a significant consumption of the reducing sugars, in the average of 93%. The average yield of ethanol relative to the theoretical was  $65.59 \pm 1.83(\%)$ .

**Keywords:** Manipueira, saccharification, alcoholic fermentation, yield, ethanol.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Prensagem separando a biomassa do líquido.....	20
Figura 2 - Fluxograma das etapas de prensagem na casa de farinha.....	20
Figura 3 - Despejo da manipueira proveniente da casa de farinha.....	21
Figura 4 - Lagoa de armazenamento da manipueira ao lado da casa de farinha .....	21
Figura 5 - Reação utilizada para determinação espectrofotométrica de açúcares redutores. ...	23
Figura 6 - Curva de calibração do DNS .....	28
Figura 7 - Centrífuga de bancada .....	28
Figura 8 - Micro destilador de bancada .....	29
Figura 9 – Redução do °Brix em função de tempo de fermentação, referente aos experimento 1 e 2. ....	32
Figura 10 - Decaimento do °Brix ao longo do processo fermentativo (Experimento 3).....	32
Figura 11 – Rendimento de etanol obtido ao final dos processos de fermentação.....	34
Figura 12 - comparação do vinho fermentado com o destilado em termos de graduação alcoólica.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização inicial da manipueira. ....	30
Tabela 2 - Quantidade de sólidos. ....	30
Tabela 3 - Concentração dos açúcares redutores após 54 horas da   sacarificação da manipueira. ....	31
Tabela 4 – Parâmetros determinados ao final do processo fermentativo. ....	33
Tabela 5-Rendimento de etanol obtido da fermentação do hidrolisado de manipueira. ....	33

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ARs: Açúcares redutores consumidos

CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento.

CO<sub>2</sub>- Dióxido de carbono.

DQO- Demanda química de oxigênio.

DBO- Demanda bioquímica de oxigênio.

°GL- Fração em volume de álcool absoluto.

HCN- Ácido cianídrico.

H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> -Dihidrogenofosfato.

MERCOSUL- Mercado comum do sul.

NH<sub>4</sub><sup>+</sup> -Amônio

Proálcool- Programa do Álcool

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
1.1 Objetivo .....	15
1.1.1 Objetivo Geral .....	15
1.1.2 Objetivos Específicos.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1 Etanol.....	17
2.1.1 Etanol de 1ª Geração.....	17
2.1.2 Etanol de 2ª geração.....	18
2.1.3 Etanol de 3ª geração.....	18
2.2 Mandioca .....	19
2.2.1 Manipueira .....	21
2.3 Hidrólise Enzimática .....	22
2.4 Determinação de açúcares redutores .....	23
2.5 Fermentação alcoólica .....	24
2.6 Destilação .....	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1 Manipueira.....	26
3.2 Sacarificação enzimática da manipueira.....	26
3.3 Fermentação alcoólica .....	26
3.4 Metodologia Analítica .....	27
3.4.1 Determinação dos açúcares redutores .....	27
3.4.2 Determinação da graduação alcoólica .....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
4.1 Caracterização da manipueira.....	30
4.3 Fermentação alcoólica .....	31
4.3 Destilação .....	36
5 CONCLUSÃO.....	37

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	38
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem como iniciativa o reaproveitamento de um resíduo da agroindústria, prejudicial ao meio ambiente e ao ser humano, através de sua transformação em uma fonte de combustível limpa sem provocar impactos na alimentação humana.

A matriz energética brasileira apresenta grande potencial mundial quando se fala de etanol, material combustível gerado de diversas fontes de biomassa. Atualmente, a principal fonte de produção de etanol do país é a cana-de-açúcar. Porém, com a presença de acordos visando à diminuição dos gases causadores do efeito estufa se inicia uma corrida na busca por novas fontes de combustíveis. No âmbito da produção de combustível limpo, o Brasil é um país referência. Devido ao vasto território, propicia uma vantagem na produção de energias renováveis de origem solar, eólica, biomassa, hidráulica e maremotriz (SILVA *et al.*, 2011).

Na década de 1970, com o lançamento do Programa do Álcool (Proálcool) foram realizados investimentos de pesquisa no território brasileiro. A finalidade estratégica do programa foi substituir parte da gasolina consumida no mercado interno, de forma a reduzir as importações de petróleo. A partir do programa, a indústria automotiva desenvolveu novas tecnologias atualmente conhecidas, como o carro bicombustível e os motores flex, que funcionam com gasolina ou com etanol, e também passou a ser o centro das atenções, quando se procuram soluções para substituir o petróleo por fontes alternativas de energias renováveis (SILVA *et al.*, 2008).

Atualmente, a produção mundial de etanol combustível é baseada essencialmente na fermentação de matérias-primas de origem açucaradas (sacarinas) ou de amidos. Entretanto, nos últimos anos, tem-se percebido uma tendência para a utilização eficiente de subprodutos agro-industriais visando à obtenção de bioprodutos de valor agregado, tais como biocombustíveis e biomateriais. Por outro lado, o processamento de resíduos agro-industriais minimiza os problemas ambientais associados à sua eliminação e reduz a dependência de recursos petrolíferos quando são utilizados na produção de biocombustíveis, e não promove impactos negativos nos preços dos alimentos (COLLARES *et al.*, 2012).

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivada em todo o Brasil encontra diversas utilizações, podendo ser consumida diretamente na alimentação humana bem como matéria-prima para diversos produtos industriais, dentre os mais importantes estão a farinha de mandioca, a fécula e o polvilho azedo. Em relação à agroindústria de fabricação de farinha de mandioca, esta tem vários níveis de tecnologias, o que tem impacto na qualidade da farinha e na quantidade e composição físico-química dos resíduos gerados. Durante o processamento da mandioca são gerados subprodutos sólidos no descascamento (casca marrom, entrecasca) os

quais podem ser aproveitados para a produção carvão ativado. Já na prensagem da mandioca é gerado um líquido (manipueira), de odor forte e com grande quantidade de amido (AVANCINI, 2007; BRINGHENTI *et al.*, 2006).

Em 2015, a quantidade de mandioca produzida no Brasil foi da ordem de 22,8 milhões de toneladas, sendo as maiores produtoras as regiões Norte e Nordeste, responsáveis por 35 e 23% do total produzido, respectivamente (CONAB, 2016).

Problemas ambientais são gerados devido ao grande volume de manipueira obtido, sendo em média de 300 L por tonelada de raiz processada, o que acarreta em uma demanda química de oxigênio (DQO) de 14.000 mg/L. O índice equivalente em demanda bioquímica de oxigênio (DBO) é de 54 g/hab/dia; uma feclaria e uma casa de farinha que processam individualmente uma tonelada/dia de raízes, equivalem, respectivamente, à poluição causada por 200 a 300 e 150 a 200 habitantes/dia (FERREIRA *et al.*, 2001).

O amido residual presente na manipueira apresenta-se como substrato potencial para processos fermentativos. Entretanto, o amido não é disponível à levedura alcoólica, necessitando assim ser submetido a um processo de transformação a açúcares fermentescíveis, o que pode ser conseguido via hidrólise enzimática, utilizando amilases como catalisadores (CAMILI *et al.*, 2009; BRINGHENTI *et al.*, 2006).

Assim, o resíduo manipueira pode ser reutilizado na produção de etanol dando uma contribuição melhor para a economia nacional, assim como minimizando os problemas ambientais gerados pelo seu descarte. Para tanto, o processo de obtenção de etanol passa por diversas etapas, tais como: caracterização inicial, sacarificação enzimática, fermentação alcoólica e por fim, a destilação (BRINGHENTI *et al.*, 2006)

Barana (2000) afirma que para cada tonelada de mandioca colhida são produzidos 300 litros de manipueira e esses mesmos produzem 19,33 litros de álcool. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), no ano de 2015, o Brasil teve uma produção de 22,8 milhões de toneladas de mandioca. Caso toda a mandioca fosse destinada à produção de farinha, então a manipueira gerada no processo, se hidrolisada e fermentada a etanol, poderia gerar 4,4 mil m<sup>3</sup> do produto.

## **1.1 Objetivo**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

Em geral, este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de aproveitamento do resíduo agro-industrial manipueira para a obtenção de etanol.

### ***1.1.2 Objetivos Específicos***

- Realizar a sacarificação do resíduo, utilizando enzima alfa-amilase.
- Fermentar o hidrolisado obtido, utilizando uma linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Destilar o vinho obtido para determinação do grau alcoólico;
- Determinar os rendimentos de etanol.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Etanol

A preocupação global com as mudanças climáticas e a consequente necessidade de diminuir as emissões de gases de efeito estufa têm incentivado o uso de combustíveis renováveis, destacando-se dentre estes, o etanol, que pode ser usado em substituição ou como aditivo de combustíveis de origem fóssil, como a gasolina (DIAS *et al.*, 2009).

Há diferentes maneiras de se obter etanol, entre elas, estão a via sintética e a via fermentativa. No caso do Brasil, a via fermentativa é a maneira mais importante, devido ao grande número de matérias-primas naturais existentes em todo o território (LIMA *et al.*, 2001).

Na obtenção do álcool por via fermentativa, distinguem-se três fases: o preparo do substrato, a fermentação e a destilação (LIMA *et al.*, 2001).

Qualquer produto que contenha açúcar ou outro carboidrato constitui-se em matéria-prima para a obtenção do etanol. Diversos países utilizam matérias-primas variadas para a produção de etanol, como é o caso da União Europeia, que utiliza o trigo e a beterraba sacarina, os Estados Unidos, que utilizam o milho, o Canadá e a China, que fazem uso do milho e do trigo e no caso do Brasil, a cana-de-açúcar (LIMA *et al.*, 2001; VASCONCELOS, 2012). Além dessas matérias-prima, no sentido de aumentar a produção de etanol, associada ao objetivo de minimizar os impactos ambientais causados pelo uso dos combustíveis fósseis, deu-se uma corrida em todo o mundo pelo desenvolvimento de pesquisas relacionadas ao uso de subprodutos da agro-indústria. Dependendo da matéria-prima utilizada e das etapas de processamento, o etanol passou a ser chamado de primeira, segunda e terceira geração.

#### 2.1.1 Etanol de 1ª Geração

Na produção de etanol de 1ª geração, o agente fermentativo, consegue metabolizar o substrato, sem a necessidade de uma etapa preparatória. No caso do Brasil, a principal matéria-prima é a cana-de-açúcar, rica em sacarose. Os agentes fermentativos mais importantes são as leveduras (LIMA *et al.*, 2001; PACHECO, 2011).

O processo de obtenção de etanol, em escala industrial, a partir da cana-de-açúcar, segue as seguintes etapas (PACHECO, 2011):

- A matéria prima, ao chegar às usinas, passa pela balança para a pesagem e logo em seguida é lavada. O ideal é que não passe mais de 24 horas no pátio, evitando assim, a perda de sacarose.

- Após a limpeza, segue para as facas e os desfibradores para facilitar a extração do caldo, sendo essa extração feita por ternos de moenda. Em algumas sessões são feitas embebições simples ou compostas para que possa ser feita a retirada do máximo de sacarose contida no bagaço; em seguida esse bagaço vai para a cogeração da empresa ou é vendido e o caldo vai receber os tratamentos adequados de ácidos e bactericidas, calagem, decantação, filtração e aquecimento para retirada de diversas impurezas encontradas.

A fermentação é realizada em dornas sendo elas contínuas ou por batelada aonde será adicionada a levedura para que possa consumir os açúcares contidos no caldo e seja convertido em álcool sendo depois centrifugado, separado em colunas de destilação, para a obtenção do etanol de 1ª geração, sendo ele hidratado com 95,1% a 96% (v/v) de álcool e o etanol anidro com 99% álcool (ANP N°7,9 fev,2011).

### *2.1.2 Etanol de 2ª geração*

Obtido através da biomassa de resíduos industriais, vegetais e urbanos, o etanol de segunda geração, vem como alternativa de reaproveitar essa biomassa que sobra ou até mesmo é descartada e transformá-la em uma fonte de combustível renovável e com baixo poder de poluição (ALVES, 2012)

Segundo Alves (2012), na produção de etanol de 2ª geração faz-se necessária uma etapa de pré-tratamento dessa biomassa, sendo a do tipo: químico, físico, biológico ou combinados. Existem vários tipos de tratamentos, sendo os mais usados: a explosão a vapor (tratamento físico), hidrólise ácida e hidrólise alcalina como tratamentos químicos, a utilização de fungos para solubilizar a lignina como tratamento biológico e o tratamento combinado com a explosão a vapor catalisado com CO<sub>2</sub>.

Após o pré-tratamento a biomassa tem que ser hidrolisada com ácido ou com enzimas para obtenção de açúcares fermentescíveis para em seguida, ser realizada a fermentação e destilação do mosto fermentado (ALVES, 2012).

### *2.1.3 Etanol de 3ª geração*

A produção do etanol de terceira geração vem buscar novas fontes de matérias-primas na produção de biomassa. Segundo Francisco *et al.* (2014) uma fonte descoberta foram as

microalgas as quais acumulam lipídeos nas células e com sua extração são transesterificadas para a obtenção do combustível.

De acordo com Azevedo (2014) existem três tipos de microalgas: as fotossintetizantes, umas sendo heterotróficas e outras sendo fotossintéticas; e as mixotróficas apresentando as duas fases. Existem vários fatores para escolha das microalgas como: as suas características biológicas, valor de custo da terra, energia e trabalho e o custo de água e nutrientes, e sendo cultivadas na forma autotrófica por lagoas abertas por sistemas fechados por foto biorreatores e o sistema híbrido.

## 2.2 Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), da família das Euforbiáceas é uma raiz marrom com uma grande participação no alimento mundial. Sua origem é brasileira, e desde o descobrimento do Brasil com a chegada dos portugueses já se tinha o relato do consumo da mandioca. Até os dias atuais, ela é consumida de diversas maneiras (tapioca, farinhas de diversos tipos, beiju, polvilho doce etc.). É de fácil plantação, exige pouco cuidado no período que se encontra no solo e tem uma grande fonte de nutrientes principalmente o amido (SILVA, 2009).

Com seu vasto poder nutritivo e econômico, torna o Brasil um dos maiores consumidores de farinha do mundo, tendo seu principal mercado, o consumo interno, e uma pequena porcentagem é externamente consumida. O Mercosul relatou que quase 200 milhões de pessoas consomem farinha (SILVA, 2009).

A estrutura da mandioca apresenta três fases distintas, a casca (periderme), entrecasca (córtex) e a polpa (parênquima de armazenamento de amido), apresentando de 60% a 65% de umidade e 30% a 35% de carboidratos, basicamente o amido. Existem dois tipos de mandioca, as “mansas” e as “bravas” sendo classificadas de acordo com a quantidade de cianogênicos (CAMILI *et al.*, 2009).

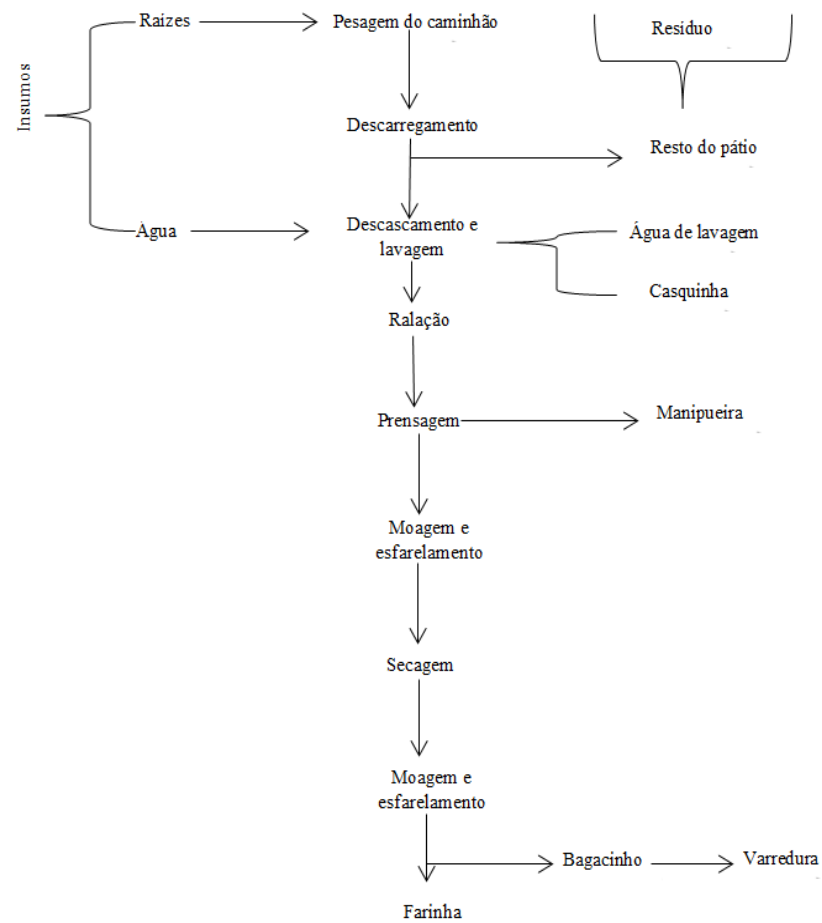
O beneficiamento da mandioca se dar em casas de farinha, pequenas fábricas, geralmente familiares, onde ocorre a recepção, descascamento que pode ser manual ou mecanizado. Em seguida, ocorre a lavagem, o repicamento, a ralação, prensagem, onde ocorre a separação, em duas frações: a biomassa e o líquido chamado de manipueira. A Figura 1 ilustra uma prensa utilizada em casa de farinha familiar. Após a prensagem, as próximas etapas são a moagem e esfarelamento, secagem e outra etapa de moagem e esfarelamento. O processo está representado no fluxograma da Figura 2.

Figura 1 - Prensagem separando a biomassa do líquido



Fonte: Autor, 2017.

Figura 2 - Fluxograma das etapas de prensagem na casa de farinha



Fonte: Camili, 2008.

### 2.2.1 Manipueira

Manipueira que em tupi-guarani significa “o que brota da mandioca”, é o líquido gerado na fabricação da farinha de mandioca, precisamente na etapa de prensagem da raiz, seguindo para lagoas para depósito (Figuras 3 e 4), podendo ser utilizada na fertirrigação, produção de tijolo, vinagre e álcool (SANTOS, 2008).

Figura 3 - Despejo da manipueira proveniente da casa de farinha



Fonte: Autor, 2016.

Figura 4 - Lagoa de armazenamento da manipueira ao lado da casa de farinha



Fonte: Autor, 2016.

De cor amarelada, com grande odor e forte potencial hidrolisável a ácido cianídrico, traz problemas de toxicidade com a presença de glicosídeo que afeta as células nervosas (SANTOS, 2008).

Esse composto glicosídeo libera limarina que ao entrar em contato com a corrente sanguínea pode inibir a corrente respiratória, com grande poder poluidor chegando a ser 25 vezes mais poluente comparado ao esgoto doméstico, tendo sua DQO (demanda química de oxigênio) de 50.000.00 mg/L HCN (Ácido cianídrico) de 140.000 ppm quando gerado na farinheira, DQO de 25.000.000 mg/L e HCN de 80.000 ppm já o esgoto doméstico apresenta DQO de 2.000 mg/L (BARANA, 2000).

A manipueira despejada de forma inadequada nos rios pode trazer grandes problemas como, a alteração da capacidade de autodepuração aonde os rios se recuperam naturalmente, o que é dificultado devido ao excesso de matéria poluente, e a eutrofização com crescimento em excesso de algas devido ao excesso de nitrogênio e fósforo, causando putrefação do solo pela sua carga poluidora (SANTOS, 2008).

### 2.3 Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática do amido é a transformação do amido em açúcares fermentescíveis, para que em seguida o hidrolisado seja submetido à fermentação (WOSIACKI, 2002). De acordo com Oliveira *et al.* (2008). As enzimas são proteínas responsáveis pela catálise de reações biológicas, tendo uma extraordinário poder catalítico, e atuam como unidades funcionais do metabolismo celular, aonde o sítio de ligação do substrato da enzima é dado pelo arranjo tridimensional de uma região de moléculas, podendo reconhecer isômeros óticos D e L de um igual composto, existem dois fatores que interferem diretamente na atividade enzimática:

- a temperatura, que quanto maior, maior será a velocidade de reação, até determinado valor que é considerado como temperatura ótima; acima da temperatura ótima, a atividade volta a diminuir, por desnaturação da molécula; e

- o pH que existe um valor ótimo, onde a distribuição de cargas elétricas da molécula da enzima e, em especial do sítio catalítico, é ideal para a catálise. As amilases hidrolisam grupos de amido, assim liberando dextrinas e pequenos polímeros e podem ser divididos em duas categorias bem distintas as endoamilases e exoamilases. As endoamilases catalisam as hidrólises de forma aleatória no interior do amido e as exoamilases hidrolisam as extremidades não redutoras da cadeia, apresentando-se em três grupos de amilases: (i) as  $\alpha$ -amilases, são responsáveis pelo rompimento das ligações do substrato; (ii) as  $\beta$ -amilases, que hidrolisam unidades das extremidades não redutoras; (iii) as glucoamilases que vão liberar unidades de glicose do terminal não-redutor das moléculas do substrato. Logo, para que haja

uma boa eficiência da hidrólise de amido em diferentes compostos, faz-se necessária uma ação em conjunto das enzimas (SANTANA, 2012).

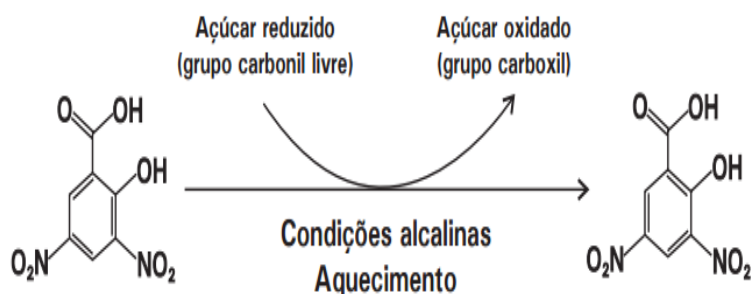
#### 2.4 Determinação de açúcares redutores

Os açúcares redutores são caracterizados por possuírem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes. Dentre estes, estão os monossacarídeos frutose e glicose (SILVA *et al.*, 2003).

Para se determinar o teor de açúcares redutores numa amostra, existem vários métodos químicos. Os métodos químicos clássicos conhecidos para a análise de açúcares redutores na sua maioria são fundamentados na redução de íons cobre em soluções alcalinas, mas também existem aqueles fundamentados na desidratação dos açúcares, por uso de ácidos concentrados, com posterior coloração com compostos orgânicos, além da simples redução de compostos orgânicos, formando outros de coloração mensurável na região do visível. Os métodos podem ser agrupados tanto em titulométricos, gravimétricos e espectrofotométricos (SILVA *et al.*, 2003).

A determinação de açúcares redutores pelo método colorimétrico do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) foi desenvolvida com base sobre a capacidade do ácido ser reduzido pela glicose a um composto aromático nitroamino análogo - ácido 3-amino-5-nitrosalicílico - (Figura 5), o qual tem a capacidade de absorver fortemente a luz, estabelecendo dessa forma, uma conexão direta entre media calorimétrica e a quantidade de açúcares redutores (GONÇALVES, 2010 *apud* VASCONCELOS, 2013).

Figura 5 - Reação utilizada para determinação espectrofotométrica de açúcares redutores.



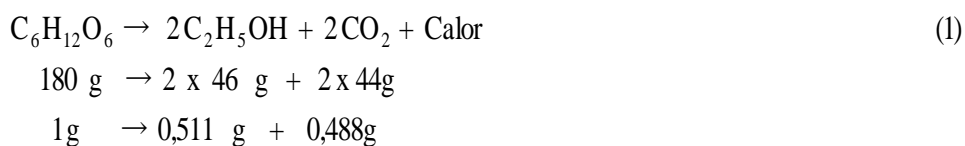
Fonte: Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013).

## 2.5 Fermentação alcoólica

A transformação de açúcares em álcool é feita através da fermentação, sendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* amplamente utilizada no processo (CARVALHO *et al.*, 2008). Reguly (1998) afirma que esta levedura possui uma tolerância a pH de 4,5 a 5,5, sendo ainda mais viável a pH entre 4,0 a 6,0. A temperatura ideal para sua fisiologia encontra-se na faixa entre 26 °C e 35 °C, sendo estabelecida uma média de 30 °C.

O processo descontínuo de fermentação apresenta três fases bem distintas: a fase preliminar, a fase principal ou tumultosa e, por fim, a fase complementar. A fase preliminar, denominada de *fase lag*, tem o seu início no momento em que ocorre o contato da levedura com o mosto. Nesta fase ocorre uma intensa reprodução das leveduras, sendo facilitada pela aeração do mosto. Ocorre pequena elevação da temperatura e pequeno desprendimento de dióxido de carbono. A fase principal, é caracterizada pela liberação intensa de CO<sub>2</sub>, acontece o aumento de etanol e a diminuição do °Brix, uma observação importante é que para ao mosto amilases e necessário a adição de agitação para que possa ocorrer a liberação de CO<sub>2</sub>. Essa é fase de maior tempo de duração. Ocorre rápida elevação da temperatura, ocorre o aumento da percentagem de álcool e acidez. Por fim, a fase complementar na qual ocorre à diminuição da intensidade de desprendimento do CO<sub>2</sub>, diminuição da densidade do vinho e a concentração de açúcares chega ao fim (REGULY, 1998; LIMA *et al.*, 2001)

Uma forma bastante usada para o cálculo do rendimento é a relação do teor alcoólico real da fermentação com o teor teórico descrito pela Equação de Gay Lussac (Equação 1) (SILVA, 2000).



A sacarose e o amido são grandes fontes para a produção de etanol. Entretanto, o rendimento não ultrapassa 95% do rendimento teórico, pois Louis Pasteur já demonstrou que há sempre consumo de carboidratos pelas leveduras (REGULY, 1998).



## 2.6 Destilação

Processo de separação de misturas homogêneas, de dois ou mais componentes que apresentam diferentes temperaturas de ebulição (FLORINDO, 2012).

Após a fermentação, os meios açucarados passam a denominar-se vinhos, com uma constituição variável, de substâncias gasosas, sólidas e líquidas. Os líquidos mais importantes são a água e o etanol, em porcentagens que variam de 88 a 93% e 12 a 7%, respectivamente, nos vinhos comuns. Do material impuro e heterogêneo e centrifugado e separa-se o etanol por destilação, em grau de pureza e concentração variáveis. Nessa operação geram-se vapores de álcool e água, que depois de resfriados formam um líquido de concentração no componente mais volátil superior a do vinho, e isento de substâncias sólidas. Em relação à maneira de conduzi-la, a destilação classifica-se em intermitente e contínua (LIMA *et al.*, 2001).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Manipueira

Foram coletados 10 litros de manipueira de uma casa de farinha, localizada no município de Pedras de Fogo, litoral sul da Paraíba. A amostra ao chegar ao laboratório foi submetida a uma caracterização inicial de pH, °Brix, turbidez e condutividade. Os experimentos e análises foram realizadas nos Laboratórios de Tecnologia Sucroalcooleira, Microbiologia e de Processos e Operações Unitárias, localizados no Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional CTDR-UFPB.

#### 3.2 Sacarificação enzimática da manipueira

A reação de sacarificação foi realizada em triplicata, em um rotaevaporador (Logen Scientific - LSRI52C5) a uma temperatura de 75 °C, em banho maria, pH 5,0 e agitação de 120 rpm. O volume reacional foi composto de 400 mL de amostra todas, ao qual foram adicionados 4 mL enzima alfa-amilase (cedida pela CBB – Biomassa e Bioprocessos). O tempo total de sacarificação foi 54 horas. Ao final da sacarificação, foi retirada uma amostra para análise do °Brix e açúcares redutores (ARs).

#### 3.3 Fermentação alcoólica

Ao final do processo de sacarificação da manipueira, descrito anteriormente (item 3.2), foi realizada a fermentação de 150 mL do hidrolisado em frasco de Erlenmeyer de 250 mL. Uma linhagem industrial de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (UFLA CA-11), foi utilizada para a produção de etanol.

Inicialmente, foi realizada uma etapa de hidratação das células, utilizando-se 1,5 g de levedura em 15 mL de solução de glicose a 0,5%. Em seguida, adicionaram-se 75 mL da manipueira hidrolisada a qual foi aerada durante 1 hora. Ao final de 1 hora de aeração, acrescentaram-se os 75 mL restantes, compondo assim, o mosto de fermentação. O mosto teve o pH ajustado para 6,0, e o °Brix correspondente ao obtido do hidrolisado.

O processo fermentativo foi conduzido na temperatura de 30 °C, 100 rpm em incubadora shaker (LUCA-223).

A fermentação foi monitorada pela redução do °Brix, sendo finalizada quando o °Brix manteve-se constante, após 4 leituras consecutivas.

O rendimento da fermentação alcoólica foi determinado através da Equação 2, sendo considerado o valor do etanol produzido em gramas e dos açúcares redutores (ARs) consumidos, em gramas (SILVA, 2008).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Etanol (g)}}{\text{ARs (g)} * 0,511 \text{ (g/g)}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

ARs: Açúcares redutores consumidos

0,511: Valor estequiométrico da equação de Gay Lussac (REGULY, 1998).

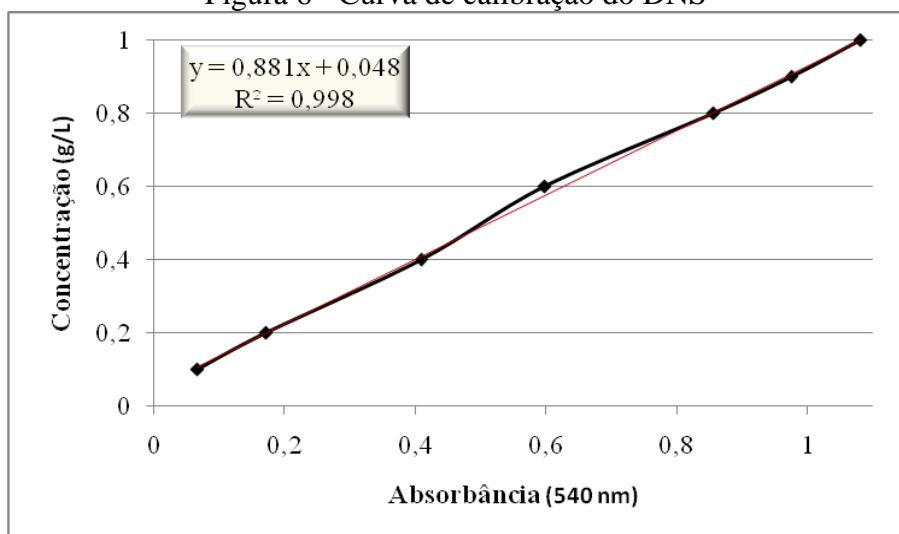
### 3.4 Metodologia Analítica

#### 3.4.1 Determinação dos açúcares redutores

Ao final do processo de sacarificação e no início da fermentação determinou-se a concentração de açúcares redutores (ARs) pelo método DNS (Ácido 3,5 -Dinitrosalicílico) descrito por Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). Para tanto, inicialmente foi construída uma curva de calibração mostrada na Figura 6 com uma solução padrão de glicose, da qual foram realizadas diluições de forma a se obter as seguintes concentrações de glicose em (g/L): 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 0,9 e 1,0, gerando a equação da reta pra ser calculado a concentração de açúcares redutores. Foi adicionado 1 mL de cada diluição em tubos de ensaio + 1 mL da solução de DNS. Os tubos foram levados a aquecimento em banho-maria (Q218-9) a 100 °C, durante 15 minutos. Após 15 minutos, os tubos foram resfriados em banho de gelo, durante 5 minutos. Em seguida, foram adicionados à mistura reacional 8 mL de água destilada. As amostras foram homogeneizadas e na sequência, foram realizadas as leituras de absorbância, em espectrofotômetro (Edutec-FFQ-9005) a 540 nm.

As amostras foram analisadas seguindo o mesmo procedimento empregado na construção da curva de calibração, realizando as diluições adequadas, de forma a ter uma absorbância dentro do limite da curva construída.

Figura 6 - Curva de calibração do DNS



Fonte: Autor, 2017.

### 3.4.2 Determinação da graduação alcoólica

O vinho foi centrifugado em centrífuga de bancada (Centrífuga – N11811) como mostra a Figura 7. A centrifugação ocorreu a 4000 rpm durante 10 minutos. O grau alcoólico de 50 mL de vinho delevedurado foi determinado utilizando-se um ebuliômetro (Tech Vision Ltda).

Figura 7 - Centrífuga de bancada



Fonte: Autor, 2017.

Outra fração de 50 mL da mistura alcoólica foi submetida à destilação em micro destilador de bancada (BFEMDA80), apresentado na Figura 8. Foi coletado 1/10 do destilado, sendo submetido à medição de sua graduação alcoólica em °GL, utilizando-se um densímetro portátil (130 N portátil-KIOTO).

Figura 8 - Micro destilador de bancada



Fonte: Autor, 2017.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização da manipueira

Os resultados referentes à caracterização da manipueira (pH, turbidez, condutividade e °Brix) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização inicial da manipueira.

pH	Turbidez (NTU)	Condutividade (MHO 20)	°Brix
4,5	668	1,38	0

Fonte: Autor, 2017.

Dados de caracterização referentes à turbidez e à condutividade não foram encontrados na literatura para que pudéssemos comparar aos valores determinados.

Quanto ao pH, em um levantamento realizado por Cassoni (2008) foi verificado que o pH da manipueira obtida de diferentes fontes variou entre 5,3 e 6,27, ficando acima do verificado na manipueira utilizada no presente trabalho. Entretanto, essa manipueira para ser sacarificada deverá ter o seu pH ajustado. Pois como afirma Oliveira *et al.* (2008), o pH ideal para a enzima deve estar entre 5 e 7.

### 4.2 Sacarificação enzimática da manipueira

O processo de sacarificação foi acompanhado ao longo do tempo, verificando-se o °Brix, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2, sendo alcançados em 54 horas de hidrólise o °Brix de 11,6, 12,6 e 11,1 para os experimentos 1, 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Quantidade de sólidos.

Sólidos solúveis – °Brix			
Tempo (h)	Experimento 1,0	Experimento 2	Experimento 3
0	0,0	0,0	0,0
24	2,5	1,4	5,6
48	8,0	11,6	10,4
54	11,6	12,6	11,1

Fonte: Autor, 2017.

Ao final de 54 horas, retirou-se uma amostra de cada experimento para determinação dos açúcares redutores (ARs), cujos valores encontram-se na Tabela 3. Para os experimentos

realizados em triplicata, percebe-se que os valores ficaram próximos, cuja concentração média foi de 82,69 g/L com um desvio padrão de 2,18 g/L.

Tabela 3 - Concentração dos açúcares redutores após 54 horas da sacarificação da manipueira.

Experimento	Açúcares Redutores (g/L)	Média	Desvio Padrão
1	85,63	82,69	2,18
2	80,42		
3	82,03		

Fonte: Autor, 2017.

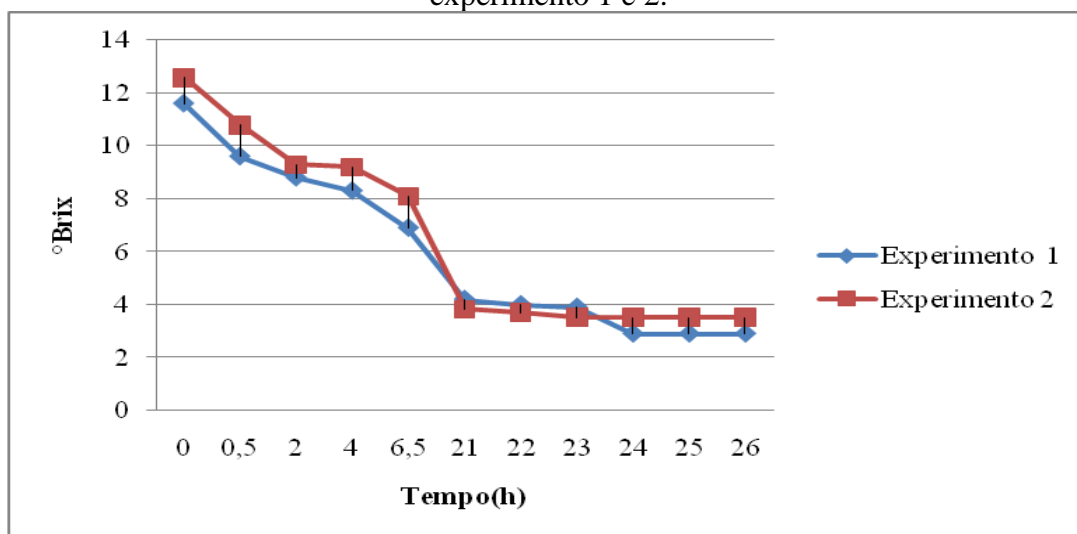
Oliveira *et al.* (2008) utilizando dois tipos de enzimas ( $\alpha$ -amilase e glucoamilase) para hidrolisar cascas das raízes de mandioca, obtiveram uma concentração de açúcar redutor de 68,4 g/L, ficando abaixo das concentrações encontradas nos ensaios de sacarificação alcançados neste trabalho. Camili *et al.* (2009) ao sacarificar a manipueira, também utilizando as enzimas utilizadas por Oliveira *et al.* (2008), conseguiram um hidrolisado contendo 204,94 e 12,90 g/L de glicose e frutose, respectivamente. Entretanto, as quantidades de glicose e frutose liberadas após a hidrólise dependem da composição da manipueira, onde a quantidade de amido varia de acordo com diversos fatores, tais como: o processamento, a variedade da mandioca, a qualidade do solo, clima etc.

#### 4.3 Fermentação alcoólica

Uma vez terminada a hidrólise enzimática foi iniciado o processo de fermentação com o °Brix abaixo do recomendado para a fermentação como afirma Volpe (1996) que é de 14 a 16 °Brix, ideal para o melhor desenvolvimento da levedura. Porém, nas condições utilizadas no presente trabalho (30 °C e pH 6,0), o °Brix não teve interferência sobre o desenvolvimento da levedura.

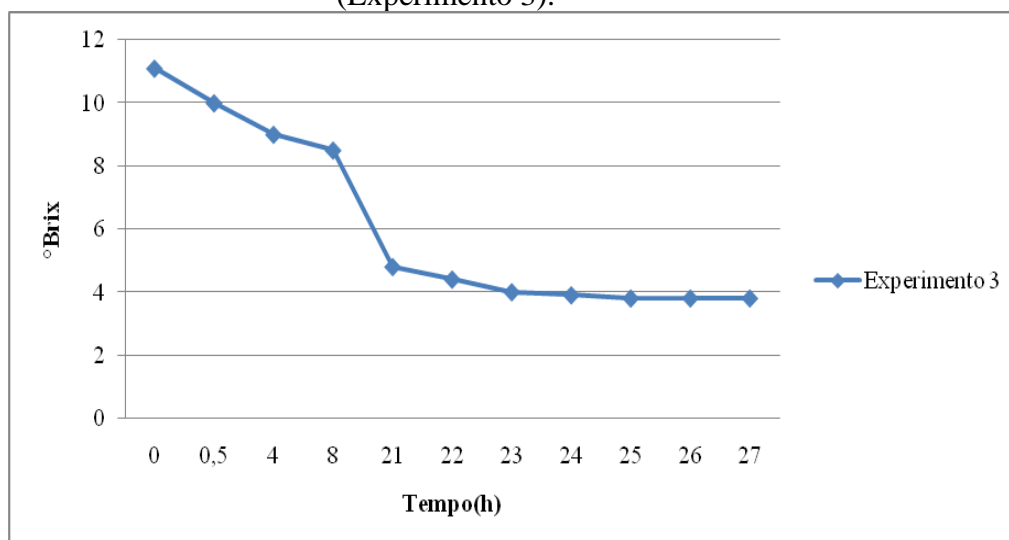
As Figuras 9 e 10 mostram a redução do °Brix em função do tempo de fermentação onde as duas figuras mostram os três experimentos nas mesmas condições. Porém, a retirada de amostras do experimento 3 ocorreu em intervalos de tempos diferentes quando comparada aos experimentos 1 e 2. O °Brix manteve-se aproximadamente constante após 24 horas de fermentação, ficando em torno de 4 °Brix para os três ensaios fermentativos.

Figura 9 – Redução do °Brix em função de tempo de fermentação, referente aos experimento 1 e 2.



Fonte: Autor, 2017.

Figura 10 - Decaimento do °Brix ao longo do processo fermentativo (Experimento 3).



Fonte: Autor, 2017.

O rendimento das fermentações foi calculado utilizando-se a Eq. 2 (item 3.3). Para isso, determinou-se o teor alcoólico do vinho delevedurado e a massa específica para se obter a quantidade de etanol em gramas.

Para determinação dos açúcares redutores consumidos, ao final da fermentação retirou-se uma amostra, para determinação dos açúcares redutores.



Na Tabela 4, estão os dados referentes aos ensaios de fermentação, quanto ao teor alcoólico e massa específica do vinho delevedurado, e aos açúcares redutores remanescentes.

Tabela 4 – Parâmetros determinados ao final do processo fermentativo.

Experimento	Teor alcoólico (°GL)	(*)Volume de etanol (mL)	Massa específica (g/mL)	Massa etanol (g)	Açúcares redutores (g/L)
1	8,3	4,15	0,965	4,00	5,92
2	7,9	3,95	0,981	3,87	5,92
3	7,5	3,75	0,989	3,71	5,68

(\*) Volume de Etanol em 50 mL de vinho

Fonte: Autor, 2017.

Observando as concentrações de açúcares redutores no início das fermentações, que são as mesmas do final da sacarificação (Tabela 3) e aquelas determinadas no final de cada fermentação (Tabela 4), verifica-se que houve um consumo da ordem de 93,1% de açúcares redutores nos experimentos 1 e 3 e, de 92,6%, no experimento 2.

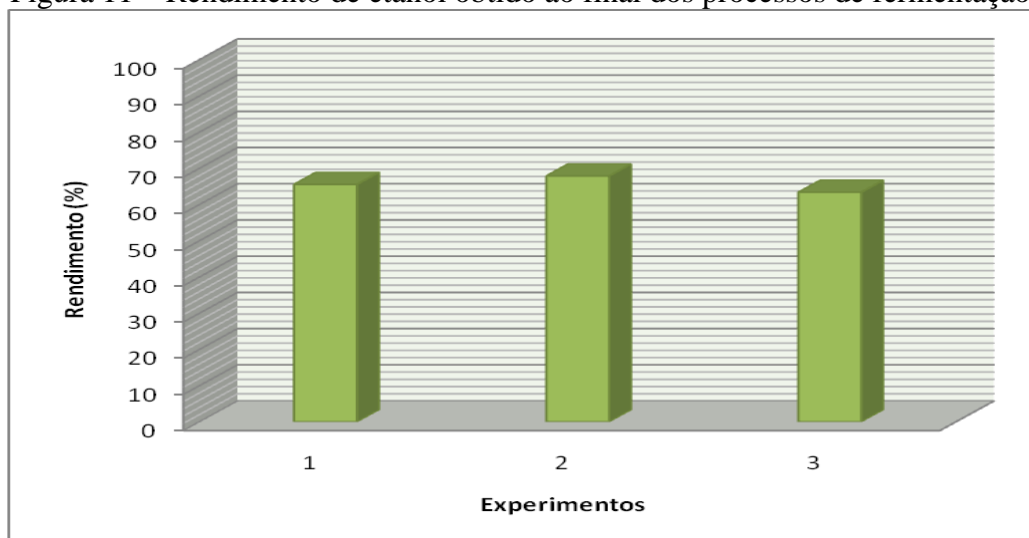
O teor alcoólico ficou entre 7,5 – 8,3 °GL, estando de acordo com dados da literatura. Lima *et al.* (2001) afirma que após a fermentação de mostos açucarados, o percentual de etanol varia de 7 a 12%, enquanto Reguly (1998) relata que a concentração de etanol fica entre 7 e 10%. Os rendimentos (%) em etanol estão apresentados na Tabela 5, assim como na Figura 11.

Tabela 5-Rendimento de etanol obtido da fermentação do hidrolisado de manipueira.

Experimento	Rendimento (%)	Média	Desvio Padrão
1	65,55	65,59	1,83
2	67,86		
3	63,37		

Fonte: Autor, 2017.

Figura 11 – Rendimento de etanol obtido ao final dos processos de fermentação.



Fonte: Autor, 2017.

Embora, tenha ocorrido um consumo significativo de açúcares redutores da ordem de 93%, em média, o rendimento de etanol foi 65,59% em relação ao teórico máximo.

Há poucos trabalhos publicados relacionados à fermentação alcoólica de hidrolisado de manipueira. Entretanto, há dados relacionados à fermentação de outras fontes de amido. Urbano *et al.* (2009) hidrolisaram manipueira, empregando dois tipos de enzimas comerciais, em duas etapas distintas. Em cada etapa foram aplicadas condições de temperatura, pH e tempo de hidrólise. Ao final do processo, o hidrolisado foi fermentado utilizando-se uma cepa comercial de levedura a 3%, durante 20 horas a 100 rpm e 19 °C. Ao final do processo, foi obtido um rendimento de etanol de 96,18%. No vinho obtido, além do etanol, estava presente o metanol e pequenos traços de glicerol.

Camili (2010) realizou um estudo sobre a produção de etanol a partir de polpa de mandioca. Nesse estudo verificou-se a influência de diferentes parâmetros operacionais, sendo que no processo de fermentação alcoólica, os fatores estudados foram a concentração de inóculo e o tempo de fermentação, sobre o teor de etanol, glicerol, teores de açúcares residuais e o rendimento de etanol a partir do consumo de glicose. Pelos resultados obtidos, o maior rendimento de etanol, foi de 80,29% (obtido para a concentração de levedura de 8% e no tempo de fermentação de 24 horas). É importante chamar a atenção para o fato que, embora tenha ocorrido um consumo considerável de glicose, da ordem de 99%, mesmo assim, o rendimento de etanol sequer alcançou os 95% do rendimento teórico, sugerido por Louis

Pasteur. Ainda no trabalho de Camili (2010) uma concentração considerável de glicerol foi quantificada (18,22 g/L), sendo o segundo componente em maior quantidade, dentre aqueles quantificados, ficando atrás apenas do etanol. Então, no presente trabalho, embora tenha ocorrido um consumo significativo dos açúcares redutores (próximo de 93%), estes podem ter sido direcionados para a formação de glicerol, ou até mesmo outros subprodutos. Segundo Lima *et al.* (2001), na sequência de reações enzimáticas que ocorrem no interior da célula de levedura, rotas alternativas aparecem para propiciar a formação de materiais necessários à constituição da biomassa (polissacarídeos, lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos), bem como para formação de outros subprodutos de interesse metabólico, relacionados direta ou indiretamente com a adaptação e sobrevivência. Assim, juntamente com o etanol e com o CO<sub>2</sub>, o metabolismo anaeróbico permite a excreção de glicerol, ácidos orgânicos (succínico, acético, pirúvico), alcoóis superiores, acetaldeído, além de outros compostos de menor significado quantitativo. Além disso, ocorre simultaneamente o crescimento das leveduras (formação de biomassa).

Outro fator que pode estar associado ao consumo significativo de substrato, porém, com baixo rendimento de etanol, é o problema da contaminação bacteriana. Frederick (1994) *apud* Camili (2010) chama a atenção para o fato que os maiores prejuízos causados pela contaminação bacteriana são a degradação de açúcares e a correspondente formação dos ácidos láctico e acético, e intoxicação das leveduras.

Embora, no presente trabalho, o hidrolisado da manipueira tenha sido obtido numa temperatura elevada (75 °C), o que pode ter reduzido a carga microbiana, que porventura estivesse presente, não podemos garantir que toda a população teria sido eliminada. Além do mais, no preparo do inóculo, na fase inicial houve uma aeração para melhor adaptação da levedura ao hidrolisado. Porém, esse ar não estava estéril, não garantindo a assepsia do processo.

São fatores que favorecem a contaminação bacteriana: altas temperaturas, aumento do tempo de fermentação e o estresse da levedura (LIMA *et al.*, 2001). Camili (2010) avaliou os níveis de contaminação durante o processo de fermentação, e verificou que acima de 12 horas de fermentação houve um aumento do número de bactérias contaminantes, atingindo a ordem de  $1,0 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias por mililitro de mosto analisado. Essa quantidade de bactérias já é considerada prejudicial ao processo, pois pode acarretar na redução do rendimento e da qualidade do etanol.

As fermentações dos hidrolisados da manipueira, foram desenvolvidas durante um longo período, de 26 a 27 horas. Talvez tenha ocorrido contaminação ao longo do processo.

Se isto aconteceu, pode ser outro fator que levou a baixos rendimentos de etanol (em média 65,59%), quando comparados a dados disponibilizados na literatura.

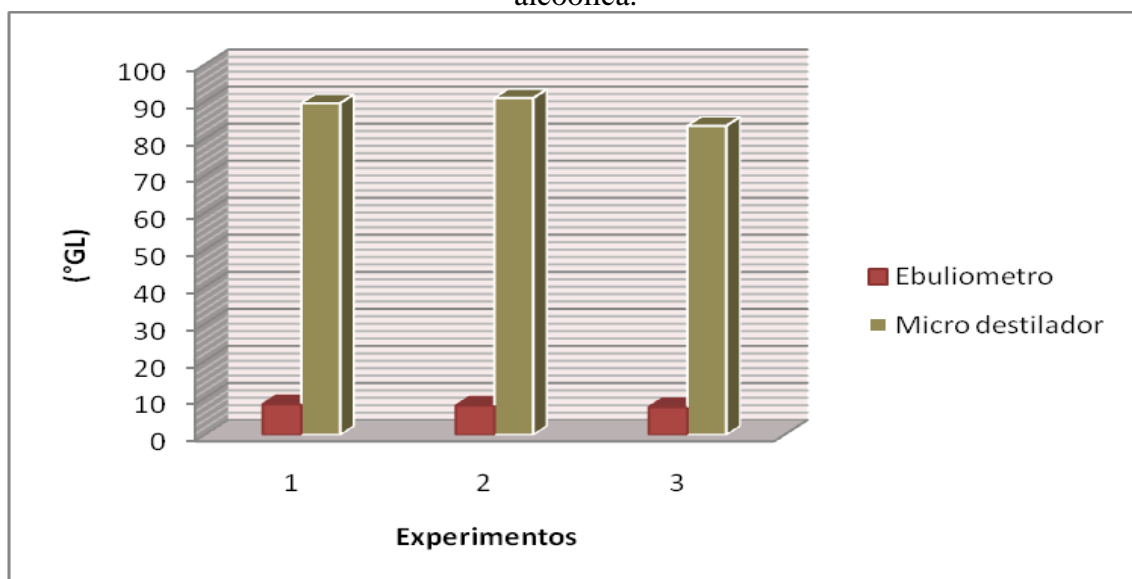
Também são fatores importantes, para o bom desenvolvimento das leveduras e a consequente formação de etanol, a presença de compostos orgânicos e minerais no mosto. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* utiliza o nitrogênio nas formas amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), amídica (ureia) ou amínica (na forma de aminoácidos); o fósforo é absorvido na forma de íon  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (LIMA *et al.*, 2001). Silva *et al.* (2008), através de um estudo de otimização da fermentação alcoólica de caldo de cana-de-açúcar, ao suplementar os mostos com fontes de nitrogênio e de fósforo, conseguiram elevar a produtividade do etanol.

#### 4.3 Destilação

O vinho delevedurado foi submetido à destilação em micro destilador de bancada, para a obtenção do álcool hidratado. A destilação obteve bons resultados, sendo obtidos teores alcoólicos de 90,1; 90,3 e 83,3 °GL, para os vinhos delevedurados das fermentações 1, 2 e 3, respectivamente.

A Figura 12 apresenta os teores alcoólicos dos vinhos delevedurados (obtidos no ebulliômetro), e dos vinhos após a separação, por destilação.

Figura 12 - comparação do vinho fermentado com o destilado em termos de graduação alcoólica.



Fonte: Autor, 2017.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos experimentos realizados foram positivos e dão um indicativo da agregação de valor à manipueira, através da produção de etanol. Embora, o rendimento médio de etanol obtido por fermentação tenha ficado abaixo do teórico máximo, esta foi uma avaliação inicial.

O aumento desse rendimento pode ser alcançado através do estudo da influência de fatores sobre a fermentação do hidrolisado, tais como: temperatura, pH, concentração da levedura, necessidade ou não de suplementação de nutrientes, assim como os cuidados referentes à assepsia do mosto, com o objetivo de minimizar possíveis contaminações. Vale salientar que anteriormente à etapa de fermentação, faz-se necessária uma melhor caracterização físico-química da manipueira. Estas características são variáveis e dependentes da variedade da mandioca, do solo, quantidade de adubo colocado, clima e das condições de processamento, o que vai impactar significativamente sobre a hidrólise e consequentemente, sobre o processo fermentativo.

O teor alcoólico do vinho delevedurado ficou dentro do intervalo reportado pela literatura. Após a destilação observou-se que o teor alcoólico foi de 90,1; 90,3 e 83,3 °GL, tendo-se assim o etanol hidratado ao final do processo de fermentação.

## **6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Caracterização físico-química da manipueira.
- Variar as condições experimentais da sacarificação enzimática, de modo a maximizar a quantidade de açúcar liberada, e reduzir o tempo de experimento.
- Otimizar o processo de fermentação alcoólica;
- Verificar a viabilidade econômica para a produção de etanol, a partir da manipueira.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. M. B.; MACRI, R. C. V. Etanol de segunda geração: estudo de materiais lignocelulósicos e aplicações da lignina, 2012.

AVANCINI, S. R. P. Caracterização química, microbiológica e toxicológica da água da fermentação do amido de mandioca. 2007. 104f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Agência nacional de petróleo e gás natural e bicomustível, ANP, 2011. Disponível em: <file:///C:/Users/sangames3/Documents/Downloads/6606eb3b1a047cd35059381295023796.pdf>. Acesso em 31/05/2017.

AZEVEDO, V. B. S. Rio de Janeiro, Março de 2014. Produção de Biodiesel a partir do cultivo de Microalgas: Estimativa de custos e perspectivas para o Brasil.

BARANA, A. C. Avaliação de tratamento de manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica. 2000. 95f. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BRINGHENTI, L.; CABELLO, C.; URBANO, H.L.; Fermentação alcoólica de substrato amiláceo hidrolisado enriquecido com melaço de cana, 2007.

CAMILI, E. A. Parâmetros operacionais do processo de produção de etanol a partir de polpa de mandioca. 2010. 131f. Tese (Doutorado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu.

CAMILI, E. A.; PINTO, P. H. M.; URBANO, L. H.; SUMAN, P. A.; CABELLO, C. Obtenção de etanol utilizando resíduo líquido (Manipueira) secado ao sol obtido em indústrias processadoras de farinha de mandioca; 2009; XIII Congresso Brasileiro de Mandioca.

CARVALHO, N. A.; IFARRAQUIERRE, T. R.; AQUINO, A. S.; KUNZULER, C.; MAGALHÃES, T. O.; EINLOFT, T.; CANDRETTA, C.; EINLOFT, S.; MEDINA-SILVA, R.; Produção de bioetanol a partir de grão de arroz, 2008.

CASSONI, V. Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira) por acetificação; 2008. Universidade Estadual Paulista FCA, Campus Botucatu. Dissertação de Mestrado

COLLARES, R. M.; MIKLASEVICIUS, L. V. S.; BASSACO, M. M.; SALAU, N. P. G.; MAZUTTI, M. A.; BISOGNIN, D. A.; TERRA, L. M. Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars. **Journal of Zhejiang University – SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**, 13(7), p. 579-586, 2012.

CONAB, 2016. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_04\\_01\\_09\\_37\\_05\\_mandiocamarco2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_01_09_37_05_mandiocamarco2016.pdf). Acesso em 11.05.2017.

DIAS, M. O. S.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A.; MACIEL FILHO, R.; ROSSEL, C. E. V.; MACIEL, M. R. W. Production of biethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. Chemical engineering research and design, 87, p. 1206-1216, 2009.

FERREIRA, A.W; BOTELHO,M.S;CARDOSO,R. M. E. ; POLTRONIERI. Manipueira: Um Adubo orgânico em Potencial Embrapa, 2001.

FIORETTO, R. A. Uso Direto da Manipueira em Fertirrigação. In: CEREDA, M.P (coord): Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca. Fundação Cargill, v. 4, p.67 – 79, São Paulo, 2001.

FLORINDO, S. M. S. S. Simulação de colunas de destilação de elevada eficiência energética. Dezembro de 2012. Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica.

FRANCISCO, E. C.; FRANCO, T. T.; MORONEZE, M. M; ZEPKA, Q. L.; LOPES, J.E.; Produção de biodiesel de terceira geração a partir de microalgas. Campinas, SP, Brasil, 2014. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia Industrial, v. 3 – Processos Fermentativos e Enzimáticos. São Paulo: Blucher, 2001.

NETTO, N. J. A saga do álcool: fatos e verdades sobre os 100 anos de história do álcool combustível em nosso país. **Novo Século**. Osasco- São Paulo, 2007.

OLIVEIRA, A. H. R; SUDO, J. T. C.; RESENDE, M. M. R.; Estudo dos processos de sacarificação, fermentação e destilação de cascas e pontas de mandioca do processo de obtenção de aguardente. Universidade Federal de Uberlândia –UFB, 2008.

PACHECO, T.F. Brasília- Distrito Federal. Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração, 2011.

REGULY, C. J. Biotecnologia dos processos fermentativos, v2. Ed. Universitária, pg: 56,60,61,67,68,69, UFPel. 1998.

SANTANA, R. S. M. Produção de enzimas amilolíticas através da fermentação em estado sólido. Itapetinga-Bahia Brasil, 2012.

SANTOS, A. Usos e impactos ambientais causados pela manipueira na microrregião sudoeste da Bahia-Brasil, 2008.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 23(3), 337-341, 2003.

SILVA, P. A. I. Aproveitamento sustentável da manipueira; Seminário Nacional sobre Manipueira, 2009.



SILVA, J. L. Desempenho do Reator Anaeróbio Horizontal com Chicanas no tratamento da manipueira em fases separadas e estabilização do pH com conchas de sururu. Universidade de Alagoas- centro de tecnologia- programa de Pós-graduação em recursos hídricos e saneamento. Maceió-AL, 2009.

SILVA, J. S. S.; JESUS, J. C.; COUTO, S. M. Noções sobre Fermentação e produção de álcool na fazenda, 2000.

SILVA, A. S. B.; GUIMARÃES, C. M. M.; LORDÊLO, F. S.; PORTO, C. M. A importância da utilização das energias renováveis para a construção de um desenvolvimento econômico sustentável para o Brasil e para a Bahia, 2011.

SILVA, J. A.; DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, F. L. H.; MADRUGA, M. S.; SANTANA, D. P. Aplicação da metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para otimização da fermentação alcoólica. **Quim. Nova**, Vol. 31, Nº 5, p. 1073-1077, 2008.

URBANO, L. H.; SUMAN, P. A.; LEONEL, M. Rendimento de processo de produção de etanol a partir de manipueira. 2009; XIII Congresso Brasileiro de Mandioca.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S; ARAGÃO, F. A. S., 2013. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 88 . Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos.

VASCONCELOS, S. M. Pré-Tratamento hidrotérmico e com ácido fosfórico diluído de bagaço de cana-de-açúcar para aplicação em biorrefinarias. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2012.

VOLPE, P. L. O. Estudo de fermentação alcoólica de soluções diluídas de diferentes açúcares utilizando micro calorimetria de fluxo, 1996.

WOSIACKI, G.; PASCOLICEREDA, M. UEPG; Valorização de resíduo do processamento de mandioca, 2002.